

# 博士論文

(要 約)

アユの *Flavobacterium psychrophilum* に対する免疫応答性について

平成 2 5 年 9 月

広島大学大学院 生物圏科学研究科

景山 哲史

## 第1章：序 論

アユ(*Plecoglossus altivelis altivelis*)は、サケ目、アユ科、アユ属に含まれる魚類であり、遺伝的に独立した種内の地理的品種である海産アユと琵琶湖産アユ(湖産アユ)が沖縄を除く日本国内の多くの湖沼河川に生息している。アユは、1年で一生を終える年魚であり、海産アユは海域と河川を行き来する両側回遊型の生活史を有しており、湖産アユは琵琶湖とその流入河川を行き来する陸封型の生活史を有している。アユは内水面の水産業(河川漁業および養殖業)において重要な対象魚種として位置づけられている。アユ漁業は、河川漁業における漁獲量の約10%を占めており、様々な伝統漁法により漁獲されている。一方、養殖業においては内水面の養殖生産量の約15%を占めており、その用途として、食用および河川放流用に供されている。近年、アユの漁獲量および養殖生産量は減少傾向を続けており、漁獲量は、1991年の約18,000 tから、2010年には約3,400 t、養殖生産量も1989年の約13,000 tから、2010年には6,000 tを下回り大きな落ち込みを示している。この要因として、河川漁業および養殖業で様々な指摘されているが、河川漁業および養殖業共に大きな被害を出している要因は冷水病の発生である。冷水病は、*Flavobacterium psychrophilum* を原因菌とする細菌感染症である。本病は、1987年に徳島県のアユ養殖場において、死亡したアユから*F. psychrophilum* が分離され、初めてその存在が確認された。その後、*F. psychrophilum* は全国の養殖場で確認され、近年は30%前後のアユ養殖場で毎年発生が報告されている。また、冷水病は、養殖場だけでなく河川においても毎年発生しており、近年発生報告数は減少傾向にあるものの依然として被害が報告されている。アユの河川漁業と養殖業は放流や採捕によって密接な関係を築いている。これらのことから、冷水病の発生は漁獲量および養殖生産量の減少に大きく影響していると考えられている。これまでに、養殖業では薬剤や防疫対策によって、冷水病被害の抑制に成功した事例が知られている。一方、河川においては*F. psychrophilum* を保菌していない種苗の放流が推奨されているが、*F. psychrophilum* が広くまん延している現状において根本的な対策とはなっていない。河川漁業における冷水病対策としては、アユ種苗に*F. psychrophilum* に対する抵抗性を河川放流前に付与する必要がある。そこで本研究では、アユの*F. psychrophilum* に対する自然免疫および獲得免疫の免疫応答性について検討を行い、冷水病に対する予防免疫技術の開発に資することを目的とした。

## 第 2 章: アユ 2 系統間における *F. psychrophilum* に対する感受性差とその要因

### 1 緒言

アユの自然免疫において *F. psychrophilum* に対する免疫応答を明らかにすることを目的とした。アユの系統は冷水病に対する感受性に違いがあることが、実験的に知られている。しかし、感受性の低い系統アユが *F. psychrophilum* 感染に対して、どのような生体防御能によって抵抗性を発揮しているのか、その詳細はわかっていない。本研究では、冷水病に対して抵抗性を示す抵抗性系統アユと感受性を示す感受性系統アユの 2 系統アユを供試して、*F. psychrophilum* の体内動態および免疫応答の経時的变化を比較した。

### 2 材料及び方法

*F. psychrophilum* の体内動態を調べるため、2 系統アユの脾臓内菌数を感染実験開始後 3 日に 1 回経時的に測定した。また、*F. psychrophilum* の感染に伴う 2 系統アユの免疫応答性を調べるため、6 日に 1 回採血を行い、血清凝集価および補体価の値を経時的に測定した。

### 3 結果

2 系統アユとも個体によっては、実験開始 6 日後に *F. psychrophilum* が検出され始め、12 日後には平均の脾臓内菌数がそれぞれピークとなり、その後は菌数が減少した。このように、2 系統の脾臓内菌数の増減傾向は類似していた。しかし、実験開始 6,9,12,15 日後のそれぞれの 2 系統間の脾臓内菌数には有意差が認められ、抵抗性系統アユは感受性系統アユより有意に菌数を低く抑制していた。また、抵抗性系統アユは、実験開始 6 日後の血清において *F. psychrophilum* に対する凝集反応が認められた。

### 4 考察

これらのことから、抵抗性系統アユは *F. psychrophilum* 感染に対して速やかな免疫応答が起こり、体内菌数を低く抑制することにより死亡率を低く抑制していることが示唆された。

### 第3章：*F. psychrophilum* 感染アユ免疫血清の防御効果

#### 1 緒言

*F. psychrophilum* の感染によりアユは、冷水病に対する免疫能を獲得する能力を有していることが報告されている。しかし、*F. psychrophilum* 感染に対してアユが行っている免疫応答がどのようなものであるか、その具体的な免疫能については知られていない。本研究では、*F. psychrophilum* 感染によりアユが獲得する免疫能について検討を行った。

#### 2 材料及び方法

*F. psychrophilum* 感染に対して生残したアユから採取した血清(免疫血清)および未感染魚から採取した血清 (対照血清)を供試して、アユの *F. psychrophilum* 感染に対する獲得免疫能について検討を行った。

#### 3 結果

*F. psychrophilum* による人為感染実験において、免疫血清を投与されたアユの死亡率は対照血清より有意に低かった。しかし、アユの細菌性出血性腹水病原菌 (*Pseudomonas plecoglossicida*)を供試した感染実験においては防御効果を示さなかった。

#### 4 考察

本研究で供試した免疫血清中に、*F. psychrophilum* 感染に対して防御効果を示す因子の存在が明らかとなった。この防御因子は *P. plecoglossicida* 感染に対しては効果を示さず、*F. psychrophilum* に対して特異的に反応している可能性が示唆された。これらにより、*F. psychrophilum* 感染によりアユが獲得している免疫能は、液性免疫が重要な役割を担っていると考えられた。

## 第 4 章：総合考察

本研究により、冷水病に対する抵抗性系統は *F. psychrophilum* の体内侵入に対して速やかに免疫応答が起こり *F. psychrophilum* の体内増殖を抑制することにより死亡を回避していると考えられた。また、*F. psychrophilum* 感染アユから採取した免疫血清中には、*F. psychrophilum* 特異的な防除因子を有していることが明らかとなった。これらの結果は、アユの冷水病対策として免疫学的手法の有効性を改めて明らかにするとともに、その効果的な手法開発に繋がる研究成果を得たと考えられる。